

网络出版时间:2022-07-27 16:37

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2023.02.005

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20220727.1229.001.html

基于 UHPLC-MS 技术的枇杷叶 次生代谢物周年变化研究

王增斌, 宋 雪, 王 洋, 李怡诺, 鲁周民

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】探明枇杷叶次生代谢物在生长过程中的变化规律,为枇杷叶的有效利用提供理论依据。【方法】以枇杷夏梢为试验材料,从新叶停止伸长生长(7月4日)开始,每3个月采样1次,以甲醇作为提取溶剂,采用超高效液相色谱-质谱法(UHPLC-MS),测定枇杷叶中的酚酸类、有机酸类、单宁类、黄酮类、萜类、生物碱类、香豆素类等次生代谢成分,分析其在不同时期的变化规律。【结果】在枇杷叶甲醇提取物中共分离鉴定出8类71种化合物,包括酚酸类8种,有机酸类5种,单宁类3种,黄酮类28种,萜类18种,生物碱类2种,香豆素类3种,其他类4种。酚酸类主要成分为绿原酸和新绿原酸,黄酮类主要成分为儿茶素和2''-O-对香豆酰基牡荆素,萜类主要成分为积雪草酸、山楂酸和皂皮酸。在枇杷夏梢周年生长中,各类次生代谢物质的化合物数量和总含量呈现出规律变化:从化合物数量看,除单宁类、生物碱类和其他类次生代谢物数量基本不变外,其余5类次生代谢物的化合物数量均呈增加趋势,而且化合物数量增加都在生长初期的6个月内完成;从每类物质总含量看,萜类和其他类物质含量呈逐渐上升趋势,酚酸、黄酮和香豆素3类物质含量呈先上升后下降趋势,单宁类物质含量变化不大,有机酸类与生物碱类物质含量总体呈下降趋势。【结论】以萜类为利用目标原料时,应在枇杷叶老熟并即将掉落时采集;而以酚酸、黄酮类物质为利用目标原料时,应在1月份采集。

【关键词】 枇杷叶;超高效液相色谱-质谱法;次生代谢物

【中图分类号】 S667.301

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2023)02-0043-10

Annual variation of secondary metabolites in loquat leaves based on UHPLC-MS technology

WANG Zengbin, SONG Xue, WANG Yang, LI Yinuo, LU Zhoumin

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This study explored variations of secondary metabolites of loquat leaves during growth process to provide theoretical basis for effective utilization of loquat leaves. 【Method】 Summer shoots of loquat were collected once every three months since elongation of new leaves ended on July 4. With methanol as extraction solvent, UHPLC-MS was used to determine secondary metabolites of phenolic acids, organic acids, tannins, flavonoids, terpenoids, alkaloids and coumarins, and their changes in different stages were analyzed. 【Result】 A total of 71 compounds in 8 categories were isolated and identified from methanol extract of loquat leaves, including 8 phenolic acids, 5 organic acids, 3 tannins, 28 flavonoids, 18 terpenoids, 2 alkaloids, 3 coumarins and 4 other compounds. Main phenolic acids were chlorogenic acid and neochlorogenic acid, main flavonoids were catechin and vitexin 2''-O-*p*-coumarate, while main terpenoids

〔收稿日期〕 2022-01-10

〔基金项目〕 财政部“以大学为依托的农业科技推广模式建设”项目(XTG2021-23)

〔作者简介〕 王增斌(1997—),男,山东临沂人,在读硕士,主要从事植物资源利用研究。E-mail:758854996@qq.com

〔通信作者〕 鲁周民(1966—),男,陕西户县人,研究员,博士生导师,主要从事经济林果品加工利用研究。

were asiatic acid, maslinic acid and quillaic acid. In annual growth of loquat summer shoots, number and total contents of all secondary metabolites showed regular changes. In terms of compounds number, secondary metabolites exhibited an increasing trend during the annual growth of loquat leaves, and the growth completed within the first 6 months of growth, except for tannins, alkaloids and other secondary metabolites. In terms of total content, terpenoids and other compounds accumulated gradually during growth, phenolic acids, flavonoids and coumarins increased firstly and then decreased, tannins changed insignificantly during growth, while organic acids and alkaloids showed a decreasing trend overall. 【Conclusion】 Samples should be collected when loquat leaves were ripe to drop to utilize terpenoids, while samples should be collected in January to utilize phenolic acids and flavonoids.

Key words: loquat leaves; UHPLC-MS; secondary metabolites

枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.) 属于蔷薇科枇杷属双子叶植物, 不但是重要的亚热带经济果树, 还是很多地方道路和庭院绿化的观赏树种。据统计, 中国共有 20 种枇杷资源^[1], 全国作为经济产业的栽培总面积近 13 万 hm^2 , 年产量 65 万 t 左右, 生产规模占世界枇杷的 80% 以上^[2]。作为中国传统药食同源植物, 枇杷各部位皆可入药, 其果实^[3]、叶片^[4]、花^[5]以及种子^[6]都含有不同的营养成分和活性成分, 具有很高的利用价值^[7-8]。较大的栽植面积在提供大量果实的同时, 也产生了大量的枇杷叶资源。随着 2014 年国家卫计委第 20 号公告的发布, 枇杷叶作为一种新食品原料被批准用于食品加工, 枇杷叶茶^[9]、枇杷叶糖^[10]等食用产品也得以开发研究。目前, 在医药方面, 枇杷叶药理学的相关研究一直是本领域研究的热点。枇杷叶中各类化学组分特别是次生代谢物成分, 是其医疗保健功效的物质基础。因此, 探明枇杷叶在周年生长过程中各种次生代谢物含量的变化规律, 对于研究其作为食品或医药原料的功能性变化以及精准利用具有重要意义。

枇杷树生长中的新梢以春梢和夏梢为主, 在华南热带地区还会有一定量的秋梢和冬梢。研究发现, 不同季节采收的枇杷叶中三萜酸类成分含量差异较大^[11]; 罗美红等^[12]采用高效液相法测定不同采收月嫩叶、成叶以及老叶中的黄酮含量, 结果表明总黄酮含量在不同时期变化明显; 有研究证明, 枇杷夏梢伸长生长过程中功能成分含量随采收期推进发生显著变化^[13]。但这些研究一般是针对某些特定时期开展, 未对不同季节发芽生长的枝梢进行区分; 而对于在同一时期发芽生长的枇杷叶, 其长度不再伸长后的周年生长过程中主要次生代谢成分含量的变化也不清楚。因此, 本研究以停止伸长生长的枇杷夏梢为原料, 在周年生长中定期采样, 通过超高效液

相色谱-质谱(UHPLC-MS)技术对枇杷叶中的次生代谢物进行分析鉴定, 旨在揭示枇杷叶周年生长过程中次生代谢物含量的变化规律, 为枇杷叶的有效利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

枇杷叶样品采自西北农林科技大学南校区枇杷园 10 年生实生枇杷树。

甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯), 德国 Meker 公司; 甲酸(色谱纯), 山东西亚化学科技有限公司。

1.2 主要仪器与设备

KH-500DE 型数控超声清洗器, 昆山禾创超声仪器有限公司; H1850 型台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; Thermo Vanquish UHPLC 型超高效液相色谱仪、Q-Exactive HF 型高分辨质谱, 美国 Thermo 公司; Zorbax Eclipse C18(100 mm×2.1 mm×1.8 μm) 型色谱柱, 日本安捷伦公司。

1.3 试验方法

在枇杷园内选取长势一致的枇杷树 9 棵, 枇杷园内树木间距较大, 光照量充足。于 2020 年 6 月在夏梢发芽时标记同一时间段发芽的外围新梢并观察叶片生长情况, 在夏梢下部叶片停止伸长生长后, 从 7 月 4 日开始, 每隔 2 个月从每棵树东南西北 4 个方向, 采集已标记的夏梢枝条下端叶各 2 片并清除标记, 带回实验室进行处理。本研究选择在有代表性的 2020 年 7 月 4 日(记作 S1)、10 月 4 日(S2)、2021 年 1 月 4 日(S3)、4 月 4 日(S4)和 7 月 4 日(S5)采集的材料, 测定其酚酸类、有机酸类、单宁类、黄酮类、萜类、生物碱类、香豆素类及其他类物质成分含量。

将同一批采摘的叶片清洗后混合, 加液氮研磨

成粉。精确称取 5.000 g,加入 100.0 mL 无水甲醇,在温度 40 ℃、功率 100 W 下超声处理 30 min,避光浸提 24 h 后,在 4 ℃下 12 000 r/min 离心 10 min,取上清液稀释 10 倍,加入体积分数 0.01% 的二氯苯丙氨酸 10 μL 作为内标,过 0.22 μm PTFE 滤头,上机检测。

(1) 色谱条件。仪器分析平台为 LC-MS (Thermo,Ultimate 3000LC,Q Exactive HF);色谱柱为 C18 色谱柱 (Zorbax Eclipse C18(100 mm×2.1 mm×1.8 μm));分离条件为:柱温 30 ℃,流速 0.3 mL/min;流动相组成情况为:A. 水+体积分数 0.1% 甲酸,B. 纯乙腈;自动进样器温度 4 ℃,进样量 2 μL。流动相梯度洗脱程序:0~2 min,5% B;2~6 min,5%~30% B;6~7 min,30% B;7~12 min,30%~78% B;12~14 min,78% B;14~17 min,78%~95% B;17~20 min,95% B;20~21 min,95%~5% B;21~25 min,5% B。

(2) 质谱条件。正离子模式:鞘气流速 45 L/min,辅助气流速 15 L/min,吹扫气流速 1 L/min,电喷雾电压 3.5 kV,加热器温度 325 ℃,毛细管温度 330 ℃,S-Lens RF Level 55%。负离子模式:鞘气流速 45 L/min,辅助气流速 15 L/min,吹扫

气流速 1 L/min,电喷雾电压 3.5 kV,加热器温度 325 ℃,毛细管温度 330 ℃,S-Lens RF Level 55%。扫描模式:一级全扫描 (100~1 500 *m/z*),数据依赖性二级质谱扫描 (dd-MS2,TopN=10);分辨率 120 000(一级质谱)& 60 000(二级质谱)。碰撞模式:高能量碰撞解离(HCD)。

1.4 数据处理与分析

使用 Compound Discoverer 3.2 进行保留时间校正、峰识别和峰提取等工作;根据二级质谱信息,利用 Thermo mzCloud 在线数据库、Thermo mz-Valut 本地数据库等进行物质匹配鉴定。以内标物二氯苯丙氨酸为基准,计算枇杷叶片中各次生代谢物含量(均为鲜质量)。

2 结果与分析

2.1 枇杷叶甲醇提取物 UHPLC-MS 总离子流图谱

利用液质联用技术对不同时期的枇杷叶样品进行分析,由于各时期物质成分组成相同,因此本研究只展示 S3 时期的正离子流图(图 1)和负离子流图(图 2);通过成分分析共鉴定筛选出 8 类 71 种化合物(表 1~4)。

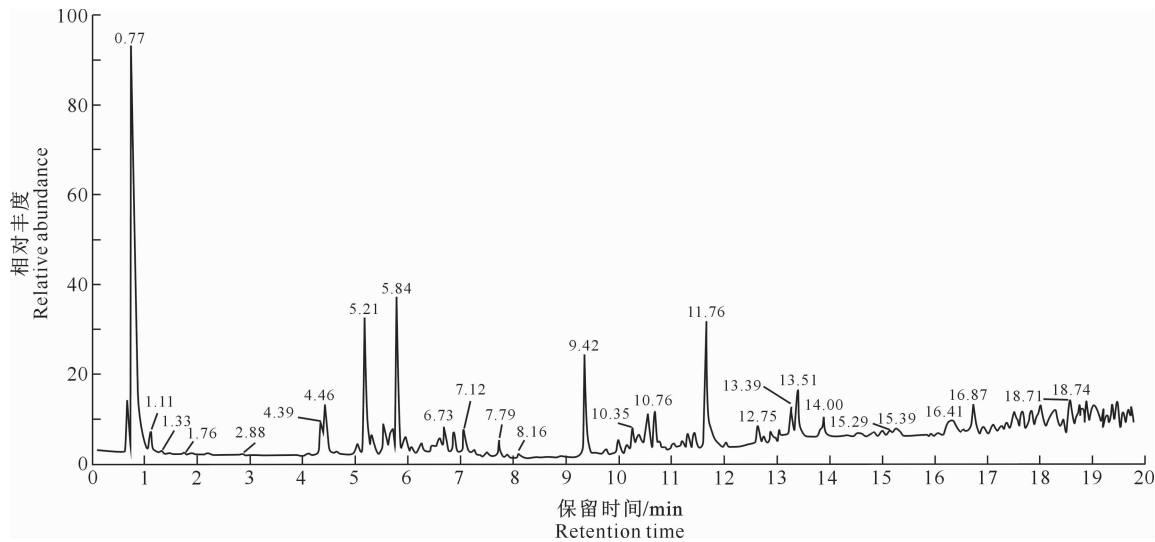


图 1 枇杷叶甲醇提取物的正离子流图

Fig. 1 Positive ion flow diagram of methanol extract from loquat leaves

2.2 枇杷叶不同生长时期酚酸类、有机酸类及单宁类成分的 UHPLC-MS 分析

从枇杷叶中共分离鉴定出 8 种酚酸类物质(表 1),包括绿原酸、新绿原酸、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、绿原酸甲酯、3,4,5-三甲氧基肉桂酸及 3-对香豆酰奎宁酸,其中绿原酸和新绿原酸含量占酚酸类物质总量的 90.80%。由表 1 可以看出,绿原酸、新绿

原酸、对香豆酸、阿魏酸和 3-对香豆酰奎宁酸 5 种酚酸含量,从枇杷初生 7 月(S1)到次年 1 月(S3)呈上升趋势,之后到次年 7 月(S5)有不同程度下降;绿原酸甲酯含量在新梢生长的 7—10 月迅速上升,之后呈不断下降趋势;3,4,5-三甲氧基肉桂酸含量在周年生长中呈缓慢下降趋势。

由表 1 可知,从枇杷叶中鉴定出的有机酸类物

质有奎宁酸、柠檬酸、莽草酸、壬二酸和己二酸。奎宁酸是枇杷叶中主要的有机酸,在夏梢生长初期(7月)含量最高,达到 7 134.9 mg/hg,占该时期有机酸含量的 99.41%,其含量在夏梢周年生长中先下降,后期有所上升。

单宁类物质属于多酚类,按其化学结构可以分为水解单宁和缩合单宁,前者又可细分为鞣酸单宁

和鞣花单宁,后者主要是聚黄烷醇类多酚或原花色素^[14]。从枇杷叶中共分离鉴定出 3 种单宁类物质,包括肉桂鞣质 A2、肉桂鞣质 A3 和肉桂鞣质 A4,可见枇杷叶中单宁类物质以肉桂鞣质为主,其含量在夏梢周年生长过程中呈先升高后下降的趋势,10 月达到最高,为 308.0 mg/hg(表 1)。

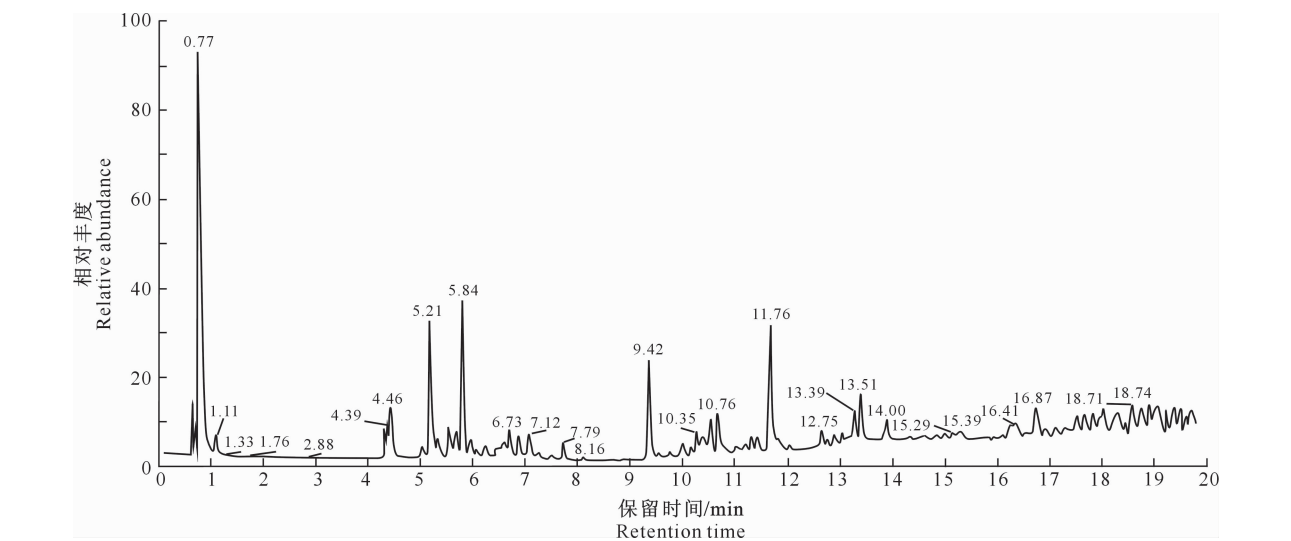


图 2 枇杷叶甲醇提取物的负离子流图

Fig. 2 Negative ion flow diagram of methanol extract from loquat leaves

表 1 枇杷叶不同生长时期酚酸类、有机酸类以及单宁类成分的 UHPLC-MS 分析

Table 1 Analysis of phenolic acids,organic acids and tannins in loquat leaves at different growth stages by UHPLC-MS									
分类 Classification	保留时间/min Retention time	质荷比 (<i>m/z</i>) Mass to charge ratio		化合物名称 Compound name	含量/(mg · hg ⁻¹) Content				
		理论值 Theoretical value	测定值 Estimated value		S1	S2	S3	S4	S5
酚酸类 Phenolic acids	5.219	354.095 1	354.095 2	绿原酸 Chlorogenic acid	361.6	950.9	1 439.4	1 355.7	1 323.8
	4.401	354.095 1	354.095 1	新绿原酸 Neochlorogenic acid	300.6	312.9	658.6	715.3	495.6
	4.405	180.042 3	180.042 0	咖啡酸 Caffeic acid	9.3	11.7	0.6	0.6	16.6
	5.863	164.047 3	164.047 1	对香豆酸 4-Coumaric acid	1.7	4.2	5.4	4.6	4.7
	5.628	194.057 9	194.057 7	阿魏酸 Ferulic acid	0.0	1.1	2.1	2.0	1.7
	6.151	368.110 7	368.110 8	绿原酸甲酯 Methyl chlorogenate	18.8	102.6	99.0	48.5	40.7
	9.439	238.084 1	238.083 5	3,4,5-三甲氧基肉桂酸 3,4,5-trimethoxycinnamic acid	5.1	4.9	3.8	3.6	3.6
	5.858	338.100 2	338.099 4	3-对香豆酰奎宁酸 3- <i>p</i> -Coumaroylquinic acid	1.0	3.5	5.0	4.0	3.6
有机酸类 Organic acids	0.817	192.063 4	192.062 7	奎宁酸 Quinic acid	7 134.9	3 715.0	2 467.4	1 782.4	2 169.1
	1.136	192.027 0	192.026 3	柠檬酸 Citric acid	0.0	0.0	40.5	24.1	16.0
	0.853	174.052 8	174.052 0	莽草酸 Shikimic acid	25.7	25.5	13.8	13.8	15.3
	7.469	188.104 9	188.104 3	壬二酸 Azelaic acid	2.3	2.2	1.9	1.7	2.3
	9.439	146.057 9	146.057 5	己二酸 Adipic acid	14.0	10.6	9.9	9.4	9.2
单宁类 Tannins	6.119	1 154.269 2	1 154.270 4	肉桂鞣质 A2 Cinnamtannin A2	113.9	146.2	99.6	101.3	104.1
	6.248	1 442.332 6	1 442.334 9	肉桂鞣质 A3 Cinnamtannin A3	79.5	101.6	80.9	78.0	68.8
	6.330	1 730.396 0	1 730.398 1	肉桂鞣质 A4 Cinnamtannin A4	43.7	60.2	45.5	40.2	44.6

注:S1 代表 2020 年 7 月 4 日所采样品,S2 代表 2020 年 10 月 4 日所采样品,S3 代表 2021 年 1 月 4 日所采样品,S4 代表 2021 年 4 月 4 日所采样品,S5 代表 2021 年 7 月 4 日所采样品。下表同。

Note:S1 represents samples taken on July 4,2020,S2 represents samples taken on October 4,2020,S3 represents samples taken on January 4,2021,S4 represents samples taken on April 4,2021,and S5 represents samples taken on July 4,2021. The same below.

2.3 枇杷叶不同生长时期黄酮类成分的 UHPLC-MS 分析

从枇杷叶中共分离鉴定出 28 种黄酮类物质(表 2),其中圣草酚为黄酮,柚皮苷为二氢黄酮,根皮苷为二氢查尔酮,儿茶素、表儿茶素、原花青素 B1、原花青素 B2、原花青素 C1 为黄烷醇,海生菊苷、金丝桃苷、槲皮苷、阿福豆苷、圣草酚-7-O-葡萄糖苷、槲皮

素、槲皮素-3,4'-二葡萄糖苷、槲皮素-3-O-葡萄糖-7-O-鼠李糖苷、槲皮素-3-葡萄糖苷、山奈酚-7-O-葡萄糖苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷、山奈酚-3-2'',6''-对香豆酰二葡萄糖苷、芹菜素-7-2'',6''-对香豆酰二葡萄糖苷、6-羟基木犀草素-7-槐糖苷、金鱼草素-4,6-二葡萄糖苷、异甘草素-4,4'-二葡萄糖苷、2''-O-对香豆酰基牡荆素、Pongamoxide B、Apimaysin 和 Bractein 共 20 种为黄酮醇。

表 2 枇杷叶不同生长时期黄酮类成分的 UHPLC-MS 分析
Table 2 Analysis of flavonoids in loquat leaves at different growth stages by UHPLC-MS

分类 Classification	保留时间/min Retention time	质荷比 (<i>m/z</i>) Mass to charge ratio		化合物名称 Compound name	含量/(mg·hg ⁻¹) Content				
		理论值 Theoretical value	测定值 Estimated value		S1	S2	S3	S4	S5
黄酮 Flavones	5.854	288.063 4	288.062 8	圣草酚 Eriodictyol	1.5	1.5	1.7	1.7	1.2
二氢黄酮 Flavonones	6.494	580.179 2	580.178 5	柚皮苷 Naringin	2.4	2.0	1.9	1.5	1.6
二氢查尔酮 Flavonones	7.476	436.137 0	436.137 3	根皮苷 Phloridzin	0.0	2.7	3.9	3.9	5.3
黄烷醇 Flavanols	5.842	290.079 0	290.079 1	儿茶素 Catechin	1 338.2	1 492.5	1 736.8	1 503.4	1 252.5
	5.846	290.079 0	290.078 3	表儿茶素 (-)-Epicatechin	62.3	66.8	68.1	62.4	54.9
	5.583	578.142 4	578.141 5	原花青素 B1 Procyanidin B1	13.0	19.3	15.9	14.4	13.3
	6.593	578.142 4	578.141 5	原花青素 B2 Procyanidin B2	1.4	1.8	1.6	1.5	1.8
	5.974	866.205 8	866.207 0	原花青素 C1 Procyanidin C1	122.6	181.7	146.3	136.8	139.1
黄酮醇 Flavonols	7.107	448.100 6	448.100 9	海生菊苷 Maritimein	10.4	63.6	131.1	192.3	156.2
	6.665	464.095 5	464.094 8	金丝桃苷 Hyperoside	1.7	1.6	8.3	14.3	8.9
	7.109	448.100 6	448.099 8	槲皮苷 Quercitrin	0.0	1.0	2.6	2.5	2.1
	7.565	432.105 7	432.105 0	阿福豆苷 Afzelin	0.4	0.5	0.8	0.9	0.9
	7.329	450.116 2	450.116 5	圣草酚-7-O-葡萄糖苷 Eriodictyol-7-O-glucoside	0.0	3.5	4.4	4.8	6.6
	6.660	302.042 7	302.042 1	槲皮素 Quercetin	0.8	1.1	4.3	6.7	4.5
	6.013	626.148 3	626.147 4	槲皮素-3,4'-二葡萄糖苷 Quercetin-3,4'-O-di-β-glucoside	0.0	1.0	3.4	4.9	4.8
	6.303	610.153 4	610.152 6	槲皮素-3-O-葡萄糖-7-O-鼠李糖苷 Quercetin-3-O-rhamnoside-7-O-glucoside	0.0	1.3	2.3	2.1	3.2
	6.016	464.095 5	464.094 8	槲皮素-3-葡萄糖苷 Quercetin-3β-D-glucoside	0.0	0.2	0.7	1.0	1.0
	6.557	448.10 06	448.099 8	山奈酚-7-O-葡萄糖苷 Kaempferol-7-O-glucoside	0.3	0.8	0.9	0.9	1.3
	6.553	594.158 5	594.157 7	山奈酚-3-O-芸香糖苷 Nictoflorin	0.4	0.8	1.1	0.7	1.3
	6.507	740.174 1	740.175 2	山奈酚-3-2'',6''-对香豆酰二葡萄糖苷 Kaempferol 3- (2'',6''-di-(<i>E</i>)- <i>p</i> -coumarylglu- coside)	7.4	95.8	154.9	162.6	240.2
	5.746	470.121 3	470.121 2	Pongamoside B	0.0	36.9	68.0	66.1	97.8
	9.495	560.153 0	560.152 0	Apimaysin	24.9	2.3	1.3	0.7	0.2
	6.659	464.095 5	464.095 9	Bractein	44.5	75.9	287.1	337.3	331.8
	5.578	578.142 4	578.142 8	2''-O-对香豆酰基牡荆素 Vitexin 2''-O- <i>p</i> -coumarate	328.6	529.3	438.6	428.4	418.5
	11.299	724.179 2	724.180 2	芹菜素-7-2'',6''-对香豆酰二葡萄糖苷 Apigenin 7- (2'',6''-di- <i>p</i> -coumarylglucoside)	184.4	25.1	41.1	8.6	27.6
	6.009	626.148 3	626.148 7	6-羟基木犀草素-7-槐糖苷 6-Hydroxyluteolin 7-sophoroside	11.4	44.8	148.8	222.7	221.1
	6.300	610.153 4	610.153 9	金鱼草素-4,6-二葡萄糖苷 Aureusidin 4,6-diglucoside	15.1	53.4	103.8	120.4	141.0
	6.490	580.179 2	580.179 6	异甘草素-4,4'-二葡萄糖苷 Isoliquiritigenin 4,4'-diglucoside	74.3	68.4	79.3	58.0	65.6

黄酮类化合物是枇杷叶生长过程中数量最多的一类次生代谢物,且以儿茶素和 2''-O-对香豆酰基牡

荆素含量较高,分别占 39.09%和 12.68%。枇杷叶周年生长过程中,儿茶素、表儿茶素含量从 7 月到次年 1 月呈上升趋势,之后不断下降;原花青素含量在 7 月到 10 月的生长初期有所上升,之后均有下降;海生菊苷、山奈酚-3-2'',6''-对香豆酰二葡萄糖苷、Bractein、6-羟基木犀草素-7-槐糖苷及金鱼草素-4,6-二葡萄糖苷在 7 月至次年 1 月积累较多,含量总体呈上升趋势。

2.4 枇杷叶不同生长时期萜类成分的 UHPLC-MS 分析

由表 3 可知,从枇杷叶中共分离鉴定出 18 种萜

类物质,包括 5 种乌苏烷型三萜(熊果酸、熊果酮酸、积雪草酸、羟基积雪草酸、3-O-反式对香豆酰委陵菜酸)、6 种齐墩果烷型三萜(齐墩果酸、皂皮酸、山楂酸、栎樱酸、甘草次酸、光甘草内酯)、羽扇豆烷型三萜和美洲茶烷型三萜各 1 种(分别为羽扇烯酮和美洲茶酸)、双萜和倍半萜各 1 种(分别为紫衫宁和 Prespatane),另外还有 3 种环烯醚萜(鸡蛋花素、乙酰哈巴苷和山梔苷甲酯)。可以看出,积雪草酸、山楂酸、齐墩果酸和皂皮酸为枇杷叶中的主要萜类物质,其中积雪草酸、山楂酸和皂皮酸这 3 种物质随着枇杷叶的生长快速积累、含量不断增加。

表 3 枇杷叶不同生长时期萜类成分的 UHPLC-MS 分析
Table 3 Analysis of terpenoids in loquat leaves at different growth stages by UHPLC-MS

分类 Classification	保留时间/min Retention time	质荷比 (<i>m/z</i>) Mass to charge ratio		化合物 Compound name	含量/(mg·hg ⁻¹) Content				
		理论值 Theoretical value	测定值 Estimated value		S1	S2	S3	S4	S5
乌苏烷型 Ursanes	16.472	456.360 4	456.359 4	熊果酸 Ursolic acid	26.4	28.9	25.3	24.9	27.5
	15.835	454.344 7	454.343 5	熊果酮酸 Ursonic acid	0.5	1.3	1.5	1.8	2.4
	11.777	488.350 2	488.350 3	积雪草酸 Asiatic acid	73.4	1 681.4	1 841.0	1 920.9	2 036.6
	11.108	504.345 1	504.345 5	羟基积雪草酸 Madecassic acid	0.0	93.1	100.1	92.1	63.3
	13.001	634.387 0	634.385 7	3-O-反式对香豆酰委陵菜酸 3-O- <i>trans-p</i> -coumaroyltormentonic acid	0.0	5.5	4.2	2.8	6.7
齐墩果烷型 Oleananes	16.466	456.360 4	456.360 4	齐墩果酸 Oleanolic acid	201.1	223.7	204.1	202.7	214.0
	12.757	486.334 5	486.334 6	皂皮酸 Quillaic acid	12.2	347.5	378.0	381.8	434.8
	13.518	472.355 3	472.355 3	山楂酸 Maslinic acid	346.7	500.4	533.5	532.3	722.9
	15.428	440.365 4	440.364 5	栎樱酸 Roburic acid	0.7	2.1	1.4	1.4	1.8
	13.314	470.339 6	470.338 6	甘草次酸 18-β-Glycyrrhetic acid	0.0	1.7	2.0	2.4	3.1
	10.581	468.324 0	468.322 9	光甘草内酯 Glabrolide	0.0	0.8	0.7	0.0	0.0
羽扇豆烷型 Lupanes	18.774	424.370 5	424.369 7	羽扇烯酮 Lupenone	0.0	0.0	0.3	0.3	0.3
美洲茶烷型 Emmanes	11.879	486.334 5	486.333 4	美洲茶酸 Emmolic acid	0.0	0.4	0.5	0.6	0.8
双萜 Diterpenoids	19.698	606.282 9	606.283 0	紫衫宁 Taxinine	3.5	3.3	3.3	4.3	2.7
倍半萜 Sesquiterpenes	9.438	204.187 8	204.187 4	Prespatane	4.0	4.0	3.1	2.8	2.9
环烯醚萜 Iridoids	10.594	290.079 0	290.078 3	鸡蛋花素 Plumericin	0.0	5.2	5.1	4.6	1.1
	1.565	406.147 5	406.147 8	乙酰哈巴苷 8-O-acetylharpagide	0.0	8.3	11.1	10.2	15.6
	0.870	406.147 5	406.147 8	山梔苷甲酯 Shanzhiside methyl ester	0.0	3.7	0.0	4.7	14.3

2.5 枇杷叶不同生长时期生物碱类、香豆素类及其他类成分的 UHPLC-MS 分析

由表 4 可知,从枇杷叶甲醇提取物中共分离鉴定出 2 种生物碱类、3 种香豆素类物质和 4 种其他类物质。生物碱包括甜菜碱和去甲槟榔次碱,其中去甲槟榔次碱含量在周年生长过程中总体呈下降趋势,以 7 月新叶中最高,为 77.3 mg/hg;香豆素类以 7-羟基香豆素为主,其中香豆素和 7-羟基香豆素含量在夏梢 7 月到次年 1 月的生长中不断升高,之后呈缓慢下降趋势;其他类物质中以乳糖醇为主,占其他类含量的 69.82%以上,乳糖醇含量在夏梢周年

生长过程中总体呈上升趋势,于次年 7 月达到最高 367.3 mg/hg。

2.6 枇杷叶中不同种类次生代谢物数量及含量的变化

对枇杷夏梢叶片周年生长过程中的次生代谢物数量及含量进行统计,结果见表 5。由表 5 可以看出,随着枇杷夏梢的不断生长,叶片中酚酸类、有机酸类、黄酮类、萜类及香豆素类化合物数量均有所增加,以黄酮类和萜类化合物数量增加较多,分别从 21 种增加到 28 种,8 种增加到 17 种,单宁类、生物碱类和其他类物质化合物数量基本维持不变,酚酸、

有机酸和香豆素 3 类化合物数量均增加 1 种,而且各类化合物数量的增加基本在 10 月或次年 1 月之前完成。酚酸类与黄酮类物质含量在夏梢新叶(7 月)中即开始不断增加,到次年 1 月达到最高,分别从 698.1,2 246.0 mg/hg 增加到 2 213.9,3 459.0

mg/hg,之后逐渐下降;萜类以及其他类物质在周年中整体呈上升趋势;香豆素类总含量变化趋势与酚酸类和黄酮类基本一致,最高含量出现在次年 1 月和 4 月;单宁类总含量在周年生长中相对稳定;有机酸类和生物碱类总含量整体呈逐渐下降趋势。

表 4 枇杷叶不同生长时期生物碱类、香豆素类及其他类成分的 UHPLC-MS 分析

Table 4 Analysis of alkaloids,coumarins and other compounds in loquat leaves at different growth stages by UHPLC-MS									
物质分类 Classification	保留时间/min Retention time	质荷比(<i>m/z</i>) Mass to charge ratio		化合物名称 Compound name	含量/(mg·hg ⁻¹) Content				
		理论值 Theoretical value	测定值 Estimated value		S1	S2	S3	S4	S5
生物碱类 Alkaloids	0.793	117.079 0	117.079 0	甜菜碱 Betaine	1.8	2.7	2.8	2.3	3.1
	0.848	127.063 3	127.063 3	去甲槟榔次碱 Guvacine	77.3	21.6	11.8	0.0	1.5
香豆素类 Coumarins	6.271	146.036 8	146.036 6	香豆素 Coumarin	0.4	0.9	1.0	0.8	0.8
	5.226	162.031 7	162.031 4	7-羟基香豆素 7-hydroxycoumarine	12.1	28.2	38.7	38.4	31.9
	4.776	340.079 4	340.079 5	秦皮甲素 Esculin	0.0	0.0	1.9	2.4	3.0
其他类 Other compounds	16.376	255.256 2	255.255 6	十六碳酰胺 Hexadecanamide	4.2	1.5	3.8	1.4	1.9
	16.889	264.245 3	264.244 7	亚麻醇 Linolenyl alcohol	29.5	14.5	26.9	0.0	17.0
	0.776	344.131 9	344.131 7	乳糖醇 Lactitol	87.9	162.9	234.0	206.6	367.3
	17.043	330.277 0	330.276 2	Ceratodictyol	4.3	4.5	4.4	4.3	4.0

表 5 不同生长时期枇杷叶中各成分种类及含量

Table 5 Types and contents of components in loquat leaves at different growth stages									mg/hg
时期 Stages	酚酸类 Phenolic acids		有机酸类 Organic acids		单宁类 Tannins		黄酮类 Flavonoids		
	种类 Kinds	含量 Content	种类 Kinds	含量 Content	种类 Kinds	含量 Content	种类 Kinds	含量 Content	
S1	7	698.1	4	7 176.9	3	237.1	21	2 246.0	
S2	8	1 391.8	4	3 753.3	3	308.0	28	2 775.6	
S3	8	2 213.9	5	2 533.5	3	226.0	28	3 459.0	
S4	8	2 134.3	5	1 831.4	3	219.5	28	3 361.5	
S5	8	1 890.3	5	2 211.9	3	217.5	28	3 204.3	
时期 Stages	萜类 Terpenoids		生物碱类 Alkaloids		香豆素类 Coumarins		其他类 Other compounds		
	种类 Kinds	含量 Content	种类 Kinds	含量 Content	种类 Kinds	含量 Content	种类 Kinds	含量 Content	
S1	8	668.5	2	79.1	2	12.5	4	125.9	
S2	17	2 911.3	2	24.3	2	29.1	4	183.4	
S3	17	3 115.2	2	14.6	3	41.6	4	269.1	
S4	17	3 190.6	1	2.3	3	41.6	3	212.3	
S5	17	3 550.8	2	4.6	3	35.7	4	390.2	

3 讨 论

植物次生代谢物是在次生代谢过程中产生的一类非生长发育所必需的小分子有机化合物,按化学性质和结构可分为酚类、萜类和含氮化合物 3 大类,对于植物的生长发育等生命活动具有重要意义,次生代谢物还具有农用、医药、食品保健及生态等功能^[15]。研究表明,在枇杷叶的整个生长过程中,次生代谢物化合物数量的增加主要发生在新叶生长的前 6 个月以内,之后枇杷叶片中次生代谢物化合物数量基本保持稳定。

3.1 枇杷叶不同生长时期酚酸类、有机酸类及单宁类物质的变化规律

酚酸类物质是重要的功能成分,属于多酚类物质的主要组成部分,按结构分为羟基苯甲酸型和羟基肉桂酸型,具有抗菌消炎、抗糖尿病、抗氧化等功效^[16]。新绿原酸和绿原酸是枇杷果实中主要的酚酸类成分,占酚酸类物质总含量的 90.80%,分别在枇杷果实成熟的早期和晚期起重要作用^[17]。绿原酸也是枇杷叶片的主要酚类生物活性成分,可用于基于饮食的高血糖管理^[18]。本试验结果表明,枇杷叶片中绿原酸含量不断升高并在次年 1 月达到最

高,可能是为枇杷果实在 2—5 月的生长积累物质。

本研究揭示,奎宁酸是枇杷叶中最主要的有机酸,其余有机酸含量较低,这与陈发兴等^[19]对枇杷叶有机酸含量的研究结果一致。在夏梢枇杷叶周年生长过程中,奎宁酸含量整体呈降低趋势,这是因为奎宁酸是绿原酸 3 种合成途径的重要中间物质^[20-21],在周年发育过程中,奎宁酸含量不断降低,而绿原酸含量不断上升。本研究中枇杷叶所含单宁类均为肉桂鞣质,其总含量的周年变化趋势与酚酸类相似,但变化幅度较小。

3.2 枇杷叶不同生长时期黄酮类物质的变化规律

黄酮类物质是重要的功能成分,具有保护心脑血管、抗肿瘤、抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒等功效^[22]。儿茶素和表儿茶素是枇杷叶中重要的黄酮类物质,对神经元细胞的保护起着重要作用,因此枇杷叶可用作天然抗氧化物质^[23]。本研究表明,黄酮类总含量在夏梢叶片周年生长过程中呈先增加后降低的趋势。有研究利用高光谱图像技术,发现枇杷叶从新叶到成熟叶再到老叶的生长过程中,总黄酮含量逐渐升高^[24],这与本研究结果不一致,可能是因为采样方式、研究方法以及生长环境与管理措施等不同引起的,具体原因还需要进一步研究。

3.3 枇杷叶不同生长时期萜类物质的变化规律

萜类是枇杷叶作为中药材的主要功能成分,具有抗炎、抗氧化、抑制肿瘤细胞增殖等生物活性^[25]。枇杷叶中的萜类化合物数量仅次于黄酮,前人研究认为,熊果酸和齐墩果酸是枇杷叶中主要的三萜酸类物质,具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节的作用^[26-28];据《中国药典》记载,枇杷叶作为中药材的使用标准为齐墩果酸和熊果酸总含量大于 0.70%^[29]。本研究结果表明,枇杷叶中萜类物质在生长过程中不断积累,总含量呈逐渐上升趋势,这与李继杨等^[30]的研究结果一致;积雪草酸、皂皮酸、山楂酸和齐墩果酸为枇杷叶中主要的萜类物质,特别是积雪草酸、山楂酸和皂皮酸在生长过程中快速积累,含量不断增加,枇杷叶老熟时三者是最主要的三萜酸成分,含量分别占到萜类物质总量的 57.36%,20.36% 和 12.25%;其次是齐墩果酸,含量为萜类物质总量的 6.03%。熊果酸和齐墩果酸总含量在夏梢周年生长过程中变化不大,与吕寒等^[11]的研究结果一致。因此,本研究认为,积雪草酸、山楂酸和皂皮酸也应该是枇杷叶中主要的药用成分,它们与其他萜类以及酚酸类、黄酮类等物质协同作用,在枇杷叶的药用功能方面作出贡献。

3.4 枇杷叶不同生长时期生物碱类、香豆素类及其他类物质的变化规律

生物碱是存在于某些植物中的一类含氮的碱性有机化合物,有显著的生物活性,是中草药中重要的有效成分之一,部分具有毒性^[31]。甜菜碱可用于保护肝脏,治疗阿尔兹海默症^[32];去甲槟榔次碱可用于杀死小菜蛾幼虫^[33]。在枇杷叶周年生长过程中,生物碱类化合物数量基本维持不变,总含量整体呈下降趋势。

香豆素类物质是自然界的一类重要天然有机化合物,研究发现,香豆素类化合物具有降压、抗 HIV、抗癌、抗肿瘤、抗氧化、抗心律失常、抗骨质疏松、抗寄生虫及抗菌等多方面的生物活性^[34-35]。本研究表明,在枇杷叶周年生长过程中,随着香豆素类化合物种类数量的增加,其总含量整体呈上升趋势。乳糖醇作为一种新的保健型食品添加剂,不仅味甜,还具有预防龋齿、增殖肠道有益菌群、保护肝脏等保健功能^[36],是在枇杷叶周年生长过程中检出的含量较高的其他类化合物,其含量也呈上升趋势。

综上所述,在枇杷夏梢叶片生长过程中,酚酸类与黄酮类物质总含量从 7 月到次年 1 月不断增加,一方面可能是为花后果实的生长积累物质基础;另一方面,由于此段时间气温不断下降,且到 1 月为一年中气温最低时期,因此酚酸类与黄酮类物质含量的增加可能也是为了提升枇杷叶抵御环境低温的能力。

4 结 论

从枇杷夏梢叶片甲醇提取物中共分离鉴定出 71 种次生代谢物,包括酚酸类物质 8 种,有机酸类物质 5 种,单宁类物质 3 种,黄酮类物质 28 种,萜类物质 18 种,生物碱类物质 2 种,香豆素类物质 3 种和其他类物质 4 种。枇杷夏梢叶片周年生长中,萜类和其他类物质不断积累,含量呈逐渐上升趋势,酚酸、黄酮、香豆素 3 类物质含量呈先上升后下降趋势,单宁类物质含量在生长过程中变化不大,有机酸类和生物碱类物质含量总体呈不断下降趋势。本研究结果表明,若以萜类为利用目标原料,应在枇杷叶老熟且即将掉落时采集;而以酚酸、黄酮类物质为利用目标原料时,应在 1 月份采集。

[参考文献]

- [1] 林顺权. 枇杷属野生种种质资源的研究与创新利用进展 [J]. 园艺学报, 2017, 44(9): 1704-1716.

Lin S Q. A review on research of the wild species in genus *Eriobotrya* germplasm and their innovative utilization [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, 44(9):1704-1716.

[2] 蒋际谋,陈秀萍,邓朝军,等. 我国枇杷产业优劣势分析与发展对策 [J]. *中国园艺文摘*, 2018, 34(4):46-48, 68.

Jiang J M, Chen X P, Deng C J, et al. Analysis of advantages and disadvantages of loquat industry in China and development countermeasures [J]. *Chinese Horticulture Abstracts*, 2018, 34(4):46-48, 68.

[3] Xu H X, Li X Y, Chen J W. Comparison of phenolic compound contents and antioxidant capacities of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruits [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2014, 23(6):2013-2020.

[4] Park B J, Nomura T, Fukudome H, et al. Chemical constituents of the leaves of *Eriobotrya japonica* [J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2019, 55(5):942-944.

[5] Zhou C H, Sun C, Chen K, et al. Flavonoids, phenolics, and antioxidant capacity in the flower of *Eriobotrya japonica* Lindl [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12(5):2935-2945.

[6] Atsushi H, Minori S, Masato N, et al. Fatty acid composition and applications of *Eriobotrya japonica* seed oil [J]. *Journal of Oleo Science*, 2019, 68(7):599-606.

[7] 刘丽丽,刘玉垠,王杰,等. 枇杷功能成分及生物活性研究进展 [J]. *食品科学*, 2020, 41(5):306-314.

Liu L L, Liu Y Y, Wang J, et al. A review of functional components and activities in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) [J]. *Food Science*, 2020, 41(5):306-314.

[8] Zhang L L, Saber F R, Rocchetti G, et al. UHPLC-QTOF-MS based metabolomics and biological activities of different parts of *Eriobotrya japonica* [J]. *Food Research International*, 2021, 143:1-11. DOI:10.1016/j.foodres.2021.110242.

[9] 赵小娜,张云云,王增斌,等. 枇杷叶伸长期主要成分变化及制茶适性研究 [J]. *食品科学*, 2021, 42(14):202-208.

Zhao X N, Zhang Y Y, Wang Z B, et al. Study on the changes of main components and tea-making suitability during leaf extension of loquat [J]. *Food Science*, 2021, 42(14):202-208.

[10] 祝冬青,蒋琳蕊. 枇杷润喉糖制备工艺的研究 [J]. *现代食品*, 2020(18):125-127, 134.

Zhu D Q, Jiang L R. Study on the preparation of loquat throat-smoothing fruit drop [J]. *Modern Food*, 2020(18):125-127, 134.

[11] 吕寒,习超鹏,陈剑,等. 不同生长季节枇杷叶中三萜酸成分的含量变化 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(18):2353-2355.

Lü H, Xi C P, Chen J, et al. Determination of triterpenoid acids in leaves of *Eriobotrya japonica* collected at in different seasons [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2009, 34(18):2353-2355.

[12] 罗美红,吕寒,李维林. 枇杷叶中总黄酮含量的高效液相色谱测定 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(3):582-583.

Luo M H, Lü H, Li W L. Determination of total flavonoids in loquat leaves by high performance liquid chromatography [J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2011, 22(3):582-583.

[13] 张云云. 枇杷新芽展叶期抗氧化性能变化规律研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学, 2021.

Zhang Y Y. Study on the changes of antioxidant capacity of loquat at the stage of new buds development [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2021.

[14] 左丽丽,王振宇,樊梓鸾,等. 植物多酚类物质及其功能研究进展 [J]. *中国林副特产*, 2012(5):39-43.

Zuo L L, Wang Z Y, Fan Z L, et al. Progress research of plant polyphenols and function [J]. *Forest By-Product and Speciality in China*, 2012(5):39-43.

[15] 孙立影,于志晶,李海云,等. 植物次生代谢物研究进展 [J]. *吉林农业科学*, 2009, 34(4):4-10.

Sun L Y, Yu Z J, Li H Y, et al. Advances in secondary metabolites of medicinal plant [J]. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2009, 34(4):4-10.

[16] 张文娜,李鲜,孙崇德,等. 枇杷酚类物质及其生物活性研究进展 [J]. *食品与药品*, 2015, 17(2):123-128.

Zhang W N, Li X, Sun C D, et al. Phenolic compounds in loquat and their bioactivities [J]. *Food and Drug*, 2015, 17(2):123-128.

[17] Ding C K, Chachin K, Ueda Y, et al. Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49:2883-2888.

[18] Ahumada J, Fuentealba C, Olaeta J A, et al. Bioactive compounds of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cv. Golden Nugget and analysis of the *in vitro* functionality for hyperglycemia management [J]. *Cienciae Investigación Agraria*, 2017, 44(3):272-284.

[19] 陈发兴,刘星辉,陈立松,等. 枇杷叶片有机酸组分分析 [J]. *福建农业大学学报(自然科学版)*, 2006(4):377-380.

Chen F X, Liu X H, Chen L S, et al. Analysis of organic acids in loquat leaves [J]. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2006(4):377-380.

[20] He L, Xu X L, Li Y, et al. Transcriptome analysis of buds and leaves using 454 pyrosequencing to discover genes associated with the biosynthesis of active ingredients in *Lonicera japonica* Thunb [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4):1-9.

[21] Kong D X, Li Y Q, Bai M, et al. Correlation between the dynamic accumulation of the main effective components and their associated regulatory enzyme activities at different growth stages in *Lonicera japonica* Thunb [J]. *Industrial Crops and Products*, 2017(96):16-22.

[22] 张晓萌,王圆圆,王洪晶. 中药材黄酮类化合物的研究进展 [J]. *广东化工*, 2020, 47(24):55-56.

Zhang X M, Wang Y Y, Wang H J. Research progress on flavonoids of Chinese medicines [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2020, 47(24):55-56.

[23] Hur S J, Bae Y I, Kim Y C, et al. *In vitro* activity of loquat leaf extract against oxidative damage in neuronal cell [J]. *Current Topics in Nutraceutical Research*, 2013, 11(3):103-

108.

[24] 邹小波,陈 武,徐艺伟,等. 不同生长阶段枇杷叶总黄酮含量的二维分布检测 [J]. 天然产物研究与开发,2016,28(3):354-358.

Zou X B,Chen W,Xu Y W,et al. Content distribution of total flavonoid in loquat (*Eriobotrya japonica*) leaves at different growth stages [J]. Natural Product Research and Development,2016,28(3):354-358.

[25] 苏文炳,原 远,白昀鹭,等. 枇杷萜类物质鉴定与三萜酸合成研究进展 [J]. 园艺学报,2019,46 (9):1727-1738.

Su W B,Yuan Y,Bai Y L,et al. Advances in terpenoid identification and triterpene acid biosynthesis in loquat [J]. Acta Horticulturae Sinica,2019,46(9):1727-1738.

[26] Kuraoka O Â M,Radai J A S,Leitao M M,et al. Anti-inflammatory and anti-arthritic activity in extract from the leaves of *Eriobotrya japonica* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2020,249:1-9.

[27] Gao Y S,Yuan Y,Song G,et al. Inhibitory effect of ursolic acid and oleanolic acid from *Eriobotrya fragrans* on A549 cell viability *in vivo* [J]. Genetics and Molecular Research,2016, 15(2):1-8.

[28] 吴 梨,赵 伟,杨瑞金. 从枇杷叶中分离提取熊果酸的研究进展 [J]. 食品科学技术学报,2011,29(6):50-53,68.

Wu L,Zhao W,Yang R J. Progress of isolation and purification of ursolic acid from *Eriobbtrya japonica* [J]. Journal of Food Science and Technology,2011,29(6):50-53,68.

[29] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2015 年版(一部) [M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:204-205.

Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China:2015 edition (volume 1) [M]. Beijing:China Medical Science and Technology Press,2015: 204-205.

[30] 李继杨,谢晓梅,李倩文,等. 枇杷不同器官及不同物候 4 种三萜酸含量的动态变化 [J]. 中国中药杂志,2015,40(5):875-880.

Li J Y,Xie X M,Li Q W,et al. Dynamic change of four triterpenic acids contents in different organs of loquat (*Eriobotrya japonica*) and phenology [J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2015,40(5):875-880.

[31] 沈以红,朱 见,李 竞. 植物生物碱在医药领域的研究与应用 [J]. 蚕学通讯,2008(1):25-31.

Shen Y H,Zhu J,Li J. Research and application of plant alkaloids in medicine [J]. Newsletter of Sericultural Science,2008 (1):25-31.

[32] 李梦杰,王志青,全 涛. 甜菜根关键活性成分及其生物功能研究进展 [J]. 食品安全质量检测学报,2022,13(2):343-350.

Li M J,Wang Z Q,Tong T. Research progress on key bioactive components and bioactivities of *Beta vulgaris* L. [J]. Journal of Food Safety and Quality,2022,13(2):343-350.

[33] 郑敏圆. 槟榔种子生物碱类杀虫活性成分鉴定及其配方研究 [D]. 江苏扬州:扬州大学,2020.

Zheng M Y. Identification of insecticidal activity of Areca nut alkaloids components and their formulation study [D]. Yangzhou,Jiangsu:Yangzhou University,2020.

[34] 郭鹏杰,林志健,张晓朦,等. 香豆素类化合物毒理研究及安全性思考 [J]. 中国中药杂志,2020,45(3):518-522.

Guo P J,Lin Z J,Zhang X M,et al. Toxicological research and safety consideration of coumarins [J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2020,45(3):518-522.

[35] 韦献果,曾 明,邓 烈,等. 柑橘及其近缘属植物中天然香豆素化合物及药效作用综述 [J]. 食品科学,2012,33(13):343-347.

Wei X G,Zeng M,Deng L,et al. Natural coumarins and their pharmacodynamics from citrus and its relatives;a review [J]. Food Science,2012,33(13):343-347.

[36] 信成夫,景文利,于 丽,等. 乳糖醇的性质及其在食品、保健品中的应用 [J]. 中国食品添加剂,2016(3):151-155.

Xin C F,Jing W L,Yu L,et al. Properties of lactol and its application in food and dietary supplement [J]. China Food Additives,2016 (3):151-155.